

Europäisches Patentamt  
European Patent Office  
Office européen des brevets



(11) EP 0 811 842 A1

(12) DEMANDE DE BREVET EUROPEEN

(43) Date de publication:  
10.12.1997 Bulletin 1997/50

(51) Int Cl.<sup>6</sup>: G01N 33/18, G01N 21/64,  
G01N 21/76

(21) Numéro de dépôt: 97470014.8

(22) Date de dépôt: 02.06.1997

(84) Etats contractants désignés:  
AT BE CH DE DK ES FI FR GB GR IE IT LI LU MC  
NL PT SE

(72) Inventeur: Ory, Jean-Marie  
57000 Metz (FR)

(30) Priorité: 03.06.1996 FR 9607016

(74) Mandataire: Schmit, Christian Norbert Marie  
Cabinet Ballot-Schmit,  
18 Place du Forum  
57000 Metz (FR)

(71) Demandeur: Arnatronic Plus Sàrl  
54530 Arnaville (FR)

(54) Capteur biologique et procédé de surveillance de la qualité de l'eau

(57) Le capteur comporte :

- un élément de canalisation (1) dans lequel l'eau peut circuler et dans la paroi duquel est ménagée une fenêtre (7) dans laquelle est placé un biosubstrat chlorophyllien (11), disposé entre une paroi de support (12) transparente et une membrane poreuse (10), en communication directe avec l'intérieur de l'élément de canalisation
- des moyens de mesure de l'activité métabolique du

biosubstrat, par mesure de la fluorescence chlorophyllienne ou mesure de la quantité d'oxygène généré par photosynthèse, disposés contre la dite paroi de support, et

- une source lumineuse principale (23) disposée de manière à éclairer le biosubstrat à travers la paroi de support.

Application à la détection en continu de la pollution de l'eau, notamment d'eaux urbaines ou de rivières.

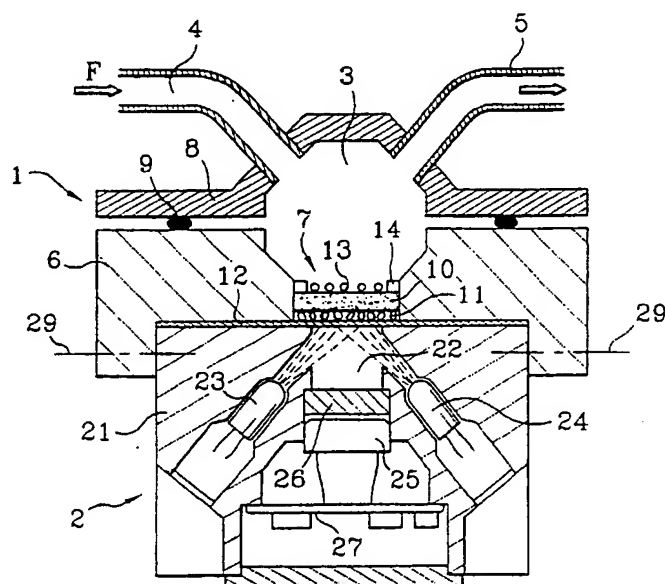


FIG.1

EP 0 811 842 A1

## Description

La présente invention concerne un capteur biologique de surveillance de la qualité de l'eau, ainsi qu'un procédé de mise en oeuvre d'un tel capteur, destiné à détecter la présence dans cette eau de traces de polluants tels que pesticides agricoles, résidus industriels, métaux lourds, nitrates, etc, en particulier pour la surveillance en continu du degré de pollution d'une eau en circulation, telle que par exemple l'eau courante d'une rivière.

On connaît déjà des méthodes et dispositifs destinés à la surveillance de la qualité de l'eau. Par exemple, il est connu de surveiller la qualité des eaux urbaines et de détecter d'éventuelles pollutions en observant le comportement d'animaux tels que poissons ou bactéries placés dans ces eaux, des changements de comportement étant révélateurs de modifications du milieu aquatique et notamment de la présence dans l'eau d'éléments polluants.

D'autres méthodes sont basées sur la détection de l'activité photosynthétique de plantes aquatiques ou d'algues ou, de manière générale, de végétaux chlorophylliens. On sait que la photosynthèse est le processus physico-chimique par lequel les plantes utilisent l'énergie de la lumière solaire pour convertir l'eau et le dioxyde de carbone en hydrates de carbone et en oxygène. L'activité photosynthétique d'une plante ou substance chlorophyllienne peut donc être évaluée par une mesure de la quantité d'oxygène généré par unité de temps, cette mesure donnant une indication sur le métabolisme global de la plante. Ainsi, on connaît déjà des procédés et dispositifs de détection de pollution des eaux basés sur ce principe et utilisant notamment certains types d'algues maintenues dans l'eau à surveiller, une mesure de l'oxygène généré par ces algues étant représentative de leur activité métabolique, laquelle est influencée par la présence de polluants dans l'eau.

On sait également qu'un végétal ré-émet une fluorescence dans le spectre lumineux rouge et proche infra-rouge (soit entre 650 et 800nm de longueur d'onde) lorsqu'il est éclairé. L'intensité de cette fluorescence est proportionnelle à la quantité de lumière reçue par la plante et qui n'a pas été assimilée pour la photosynthèse, suite à un blocage des transferts électroniques au niveau de la membrane des thylacoïdes. L'intensité de la fluorescence, qui est normalement faible lorsque le végétal est en bonne santé et exploite donc au maximum la lumière reçue pour la photosynthèse, peut augmenter dans de grandes proportions lorsqu'un facteur externe (produit chimique, variation brusque de température ou d'éclairement, etc) inhibe le métabolisme de la plante. La mesure de la fluorescence émise par des plantes ou algues maintenus dans un milieu aquatique est donc également représentative de la qualité du milieu où est placée la plante, et donc révélatrice de pollutions de ce milieu.

Les dispositifs connus mettant en oeuvre ces phé-

nomènes et utilisant soit des mesures d'oxygène, soit des mesures de fluorescence sont actuellement essentiellement des appareils de laboratoire ou de test, nécessitant des prélèvements d'échantillons de l'eau surveillée. Ils ne peuvent être utilisés pour effectuer des mesures en continu et sont donc inadaptés pour une surveillance continue de la qualité d'une eau courante et la détection de pollutions. En particulier, des pollutions fortes mais passagères et de courte durée risquent de ne pas pouvoir être détectées.

La présente invention a pour but de résoudre ces problèmes et vise à fournir un dispositif et un procédé de détection de pollution simple, permettant une surveillance continue de l'eau et une détection de pollutions durables ou passagères, notamment dans des eaux courantes telles que des eaux de rivières ou de circuits de distribution. Elle vise en particulier à permettre une surveillance de la qualité d'eaux courantes in-situ et à permettre l'enregistrement automatique et sur de longues durées des variations du degré de pollution de ces eaux courantes et la signalisation de brusques variations de ce degré de pollution.

Avec ces objectifs en vue, l'invention a pour objet un capteur biologique de surveillance de la qualité d'une eau circulante et de détection de pollution de cette eau, caractérisé en ce qu'il comporte :

- un élément de canalisation dans lequel l'eau peut circuler et dans la paroi duquel est ménagée une fenêtre dans laquelle sont placés :
- une paroi de support transparente,
- une membrane poreuse, sensiblement parallèle à la paroi de support, en communication directe avec l'intérieur de l'élément de canalisation et au travers de laquelle l'eau peut s'infiltrer,
- un biosubstrat chlorophyllien placé entre la paroi de support et la membrane poreuse,
- des moyens de mesure de l'activité métabolique du biosubstrat disposés contre la dite paroi de support, et
- une source lumineuse principale disposée de manière à éclairer le biosubstrat à travers la paroi de support transparente.

Le capteur selon l'invention est de construction simple et peut être aisément utilisé in-situ pour effectuer une détection en continu et en temps réel de pollution de l'eau conduite à travers l'élément de canalisation. En particulier et à titre d'exemple, dans le cas d'une surveillance des eaux urbaines circulant sous pression dans des conduites de distribution, le capteur peut être simplement raccordé sur ces conduites, via un robinet d'isolement. Dans le cas d'une surveillance des eaux de rivières par exemple, la circulation de l'eau dans le capteur pourra être assurée par une pompe péristaltique aspirant l'eau de la rivière et un circuit de pré-traitement en amont du capteur, assurant en particulier le filtrage de l'eau, le lissage du débit, le dégazage, la régulation

de température, etc., et une conduite de rejet de l'eau après son passage dans le capteur.

On notera que, grâce à l'utilisation d'une source lumineuse éclairant le biosubstrat à travers la dite paroi de support, et donc située du même côté de cette paroi de support que les moyens de mesure, tous les éléments nécessitant une connexion à une source électrique ou à un circuit de traitement des signaux fournis par les dits moyens de mesure peuvent être regroupés dans un même boîtier. Ce boîtier peut également intégrer l'électronique de traitement des signaux de mesure, évitant ainsi les problèmes de parasitage qui perturberaient ces signaux s'ils étaient transmis par câble à une électronique de traitement éloignée du capteur.

Préférentiellement, afin de faciliter la maintenance du capteur et en particulier pour permettre un remplacement aisé du biosubstrat, l'élément de canalisation comporte en face de la dite fenêtre une ouverture obturée par un chapeau étanche et facilement démontable, qui fournit un accès facile à la membrane poreuse et au biosubstrat.

L'invention a aussi pour objet un procédé de détection de la pollution d'une eau circulante caractérisé en ce qu'on place dans une fenêtre ménagée dans la paroi d'un élément de canalisation traversé par la dite eau un biosubstrat chlorophyllien, maintenu entre une membrane poreuse en communication directe avec l'intérieur de l'élément de canalisation et une paroi de support transparente, on dispose du côté de la dite paroi de support opposé à l'intérieur de la canalisation des moyens de mesure de l'activité métabolique du biosubstrat, on éclaire le dit biosubstrat à travers la dite paroi de support, et on mesure en permanence l'activité métabolique du biosubstrat, les variations des signaux fournis par les dits moyens de mesure étant représentatives de l'état de pollution de l'eau.

La mesure de l'activité métabolique du biosubstrat peut être réalisée soit par mesure de la quantité d'oxygène provenant de la photosynthèse du biosubstrat, soit par mesure de la fluorescence chlorophyllienne.

Dans le premier cas, les moyens de mesures sont préférentiellement constitués par un dispositif de type électrode de CLARK, mesurant la quantité d'oxygène dissous passant à travers la paroi de support, constituée alors d'un matériau perméable à l'oxygène mais imperméable à l'eau, tel que un film de PTFE. L'éclairage est appliqué par intermittence avec une période d'environ 1 minute par exemple (20 secondes d'éclairement, 40 secondes d'extinction). Dans ces conditions, on enregistre en continu la dérivée du signal de concentration d'oxygène fourni par les moyens de mesure, qui reflète l'activité photosynthétique du biosubstrat et permet donc de détecter la présence dans l'eau d'éléments polluants.

Dans le second cas, les moyens de mesure sont constitués par un détecteur de lumière tel qu'une photodiode qui mesure, dans la gamme du spectre lumineux rouge ou proche de l'infrarouge (préférentielle-

ment des longueurs d'onde supérieures à 650 nm), la fluorescence émise par le biosubstrat en réponse à une illumination modulée de ce biosubstrat, générée par une source lumineuse complémentaire, émettant par exemple sous une longueur d'onde de 470 nm. La modulation de l'illumination induit une fluorescence modulée du substrat chlorophyllien qui est détectée par la photodiode. Une démodulation synchrone du signal amplifié de la photodiode permet de s'affranchir de l'important bruit du signal généré par la photodiode en ne conservant que les éléments de ce signal correspondants à la modulation de la source lumineuse complémentaire. L'éclairage principal peut être commandé de manière à simuler des conditions d'éclairement naturel du jour ou de la nuit, ce qui permet de faire fonctionner la substance chlorophyllienne selon les deux modes métaboliques du cycle de Calvin. La source de lumière principale peut également être utilisée en mode pulsé pour provoquer des transitoires connus sous le nom de courbe de Kautski (qui représente la réponse en fluorescence d'un végétal à des variations brusques d'éclairement), et l'on détermine alors les paramètres caractéristiques de la courbe obtenue afin d'en déduire l'état métabolique du biosubstrat.

D'autres caractéristiques et avantages apparaîtront dans la description qui va être faite, à titre d'exemple, de deux modes de réalisation de l'invention, un premier mode étant basé sur la mesure de la fluorescence chlorophyllienne, le deuxième mode étant basé sur la mesure de la quantité d'oxygène généré par la photosynthèse.

On se reportera aux dessins annexés dans lesquels :

- la figure 1 est une vue en coupe d'un capteur correspondant au premier mode ;
- la figure 2 représente un capteur destiné au second mode.

Le capteur représenté figure 1 comporte un corps 1 constituant un élément de canalisation dans lequel l'eau à analyser circule selon les flèches F, et un fluorimètre 2 fixé sur le corps 1 de capteur à l'aide de vis de blocage, représentées seulement par leurs axes 29 (par exemple, trois vis disposées radialement à 120° suffisent à bloquer le fluorimètre sur le corps 1, tout en permettant de les séparer très facilement). Le corps 1 est préférentiellement réalisé en un matériau synthétique opaque, de préférence de couleur noire, par exemple en PVC ou Delrin. Le corps 1 comporte une chambre interne 3, ayant par exemple une section de forme polygonale, dans laquelle débouche un conduit 4 d'entrée d'eau et un conduit de sortie 5.

Le corps 1 est préférentiellement formé d'une base 6 dans la paroi de laquelle est ménagée une fenêtre 7 débouchant dans la chambre 3, et d'un chapeau 8 démontable sur lequel sont raccordés les conduits d'entrée et de sortie 4 et 5. Le chapeau 8 est maintenu sur

la base 6 par un système de fixation à démontage rapide de type connu en soi, par exemple du type couvercle de bocal à conserves. L'étanchéité entre la base et le chapeau est assurée par exemple par un joint torique 9.

Dans la fenêtre 7 est disposé un filtre microporeux 10, perméable à l'eau, par exemple en nitrate de cellulose, sur lequel est déposé en couche mince, du côté opposé à la chambre 3, un biosubstrat chlorophyllien 11, maintenu par ailleurs en contact avec une paroi de support formée d'un film transparent 12 chimiquement inerte, ou d'une lame de verre, maintenu de manière étanche entre le corps 1 et le fluorimètre 2, par exemple par collage sur le corps 1.

Une rondelle 13 formée d'un grillage rigide en un matériau inerte est bloquée dans la fenêtre 7 par une bague élastique 14 et permet d'assurer une pression sur le filtre microporeux 10 de manière à immobiliser le biosubstrat entre le dit filtre et le film transparent 12.

Le biosubstrat est préférentiellement constitué d'une couche d'algues microscopiques, mais il peut également être constitué de diatomées, cyanobactéries, lichens, thylacoides extraits d'un végétal quelconque, ou toute autre forme de système chlorophyllien, y compris des plantes supérieures ou des parties de celles-ci. Un gel tel que l'Alginate sous forme de couche mince ou de micro-billes peut également être utilisé pour fixer le biosubstrat.

La chambre 3 est destinée à créer de fortes turbulences de l'eau pour assurer une bonne diffusion des molécules de polluant contenues dans l'eau au travers du filtre 10, et assurer ainsi une détection efficace grâce à un renouvellement rapide de l'eau au contact du biosubstrat. Le chapeau démontable 8 permet de remplacer régulièrement, aisément et rapidement le biosubstrat lors des opérations de maintenance.

Le fluorimètre 2 est constitué d'un boîtier 21, par exemple métallique, en aluminium ou dural, comportant une ouverture centrale 22 débouchant sur le film 12 en face du biosubstrat 11. Il comporte une source lumineuse principale formée par exemple par plusieurs puissantes diodes lumineuses 23 encastrées dans le boîtier sur le côté de l'ouverture 22 (par exemple quatre diodes réparties autour de l'ouverture 22) et disposées de manière que le faisceau lumineux émis soit dirigé sur le biosubstrat 11. Préférentiellement, ces diodes 23 sont des diodes jaunes-ambre fournissant une lumière d'environ 590 nm de longueur d'onde, et permettant de simuler, selon qu'elles sont éteintes ou allumées, des conditions d'éclairement du jour ou de la nuit, pour mettre le biosubstrat dans des conditions correspondant aux deux modes métaboliques du cycle de Calvin. L'intensité lumineuse fournie par ces diodes pourra par exemple être de 6 candelas ou plus.

Une ou plusieurs autres diodes, destinées spécifiquement à générer la fluorescence du biosubstrat, par exemple des diodes bleues 24 de faible intensité émettant à 470 nm de longueur d'onde, sont également disposées dans le boîtier, de manière similaire aux diodes

23 (par exemple quatre diodes bleues réparties entre les diodes ambres 23).

Une photodiode 25, devant laquelle est placé un filtre optique 26 arrêtant les longueurs d'ondes inférieures à environ 650 nm, est disposée axialement dans l'ouverture 22, pour détecter la fluorescence du biosubstrat, et reliée à un circuit électronique de pré-amplification 27, intégré également dans le boîtier métallique 21, de manière à assurer une bonne immunité de ce circuit aux parasites. Un autre circuit électronique, qui peut également être placé dans le boîtier 32, assure l'alimentation des diodes lumineuses, et en particulier pilote les phases d'éclairement et d'extinction des diodes jaunes-ambres ainsi que la modulation des diodes bleues, utile, comme on le verra par la suite, pour améliorer le traitement du signal fourni par la photodiode 25. Compte tenu que le signal de fluorescence fourni par la photodiode 25 est très faible, le circuit d'alimentation des diodes 23 et 24 est préférentiellement complètement séparé du circuit de la photodiode 25 et blindé pour éviter de parasiter ce dernier.

Le circuit de pré-amplification est par ailleurs relié à un dispositif électronique de traitement, non représenté, constitué par exemple par un processeur de signal DSP56001 associé à des convertisseurs analogique-numérique et un port de communication vers un ordinateur, qui permet d'obtenir le niveau de fluorescence par démodulation synchrone du signal amplifié de la photodiode.

A la place des diodes lumineuses 23, 24 de différentes couleurs, on pourrait également utiliser des diodes laser ou, pour la source de lumière principale, une source halogène. De même, la photodiode 25 pourrait, dans un mode de réalisation plus coûteux, être avantageusement remplacée par un photomultiplicateur sensible dans le rouge. La disposition des diodes lumineuses pourrait également être modifiée, par exemple, de manière que leur rayonnement soit dirigé le plus près possible de la direction perpendiculaire à la paroi de support 12, pour éviter les réflexions parasites et diminuer le plus possible la lumière perdue par réflexion. On pourrait alors utiliser une photo-cellule de moindre dimension, ou éloigner celle-ci de la paroi de support et y ramener la lumière fluorescente à l'aide d'un conduit de lumière ou un faisceau de fibres optiques.

Lors de la mise en oeuvre du capteur, l'eau à analyser est amenée dans la chambre 3, soit en raccordant directement le conduit d'entrée 4 sur une conduite sous pression, par exemple dans le cas d'analyse d'eaux urbaines, soit par une pompe et un circuit de filtration dans le cas d'eau courante, par exemple de rivière. Avantagusement, des moyens de régulation en température seront disposés en amont de la chambre 3. On pourra notamment utiliser pour cela des éléments à effet Peltier, intégrés par exemple dans le conduit d'entrée 4 du capteur. On veillera également à ce que le débit d'eau traversant le capteur soit suffisamment important, pour assurer le renouvellement rapide de l'eau baignant

le biosubstrat et un brassage suffisant pour garantir une bonne diffusion des traces de polluants à travers le filtre poreux. On notera par ailleurs que la disposition du capteur représentée sur la figure, c'est à dire avec la fenêtre 7 située vers le bas de la chambre 3 permet d'éviter que des bulles ne viennent en contact avec le biosubstrat (ceci étant particulièrement important dans le cas de la deuxième variante utilisant une mesure d'oxygène dissous, qui sera décrite par la suite).

L'illumination du biosubstrat est réalisée par les diodes jaunes-ambre 23, comme indiqué préalablement, qui servent à générer le processus de photosynthèse. On notera à ce sujet que l'opacité du matériau du corps de capteur permet d'éviter toute influence parasite d'un éclairage extérieur aléatoire. Ces diodes peuvent également être utilisées en mode pulsé, avec une période de l'ordre de 15 secondes par exemple, pour générer les courbes de Kautski déjà mentionnées. Ces courbes se caractérisent par une brusque augmentation de la fluorescence d'un végétal, tel que par exemple des algues de l'espèce "senedesmus", en réponse à un passage d'une obscurité maintenue suffisamment longtemps à un éclairage suffisamment intense. En présence d'eau propre, cette fluorescence décroît rapidement en quelques secondes ; par contre, en présence d'un polluant tel que l'Atrazine, cette fluorescence reste durablement à un niveau élevé. Ce mode d'éclairage pulsé permet donc de détecter et caractériser des polluants en fonction de leur effet sur le biosubstrat, par une analyse des caractéristiques des courbes de Kautski générées par traitement des signaux issus de la photodiode.

La mesure proprement dite de la fluorescence est effectuée par la photodiode, qui capte le rayonnement fluorescent issu du biosubstrat. La modulation du rayonnement fourni par les diodes bleues 24 ( sous une fréquence de l'ordre de kHz) permet d'améliorer fortement la détection, car le signal de fluorescence est très faible et noyé dans le bruit global des signaux fournis par la photodiode. En extrayant, par une démodulation synchrone, du signal pré-amplifié de la photodiode les signaux correspondant à la fréquence de modulation des diodes bleues, on ne conserve alors que les signaux représentatifs de la fluorescence du biosubstrat modulée en accord avec la modulation de la source lumineuse. Par ailleurs, le filtre optique 26 étant quasiment parfaitement opaque au rayonnement des diodes lumineuses, la photodiode ne reçoit que les composantes du rayonnement correspondant à la fluorescence modulée, de longueur d'onde supérieure à 650 nm, à l'exclusion des rayonnements parasites provenant des sources lumineuses. On notera à ce sujet que l'utilisation d'un rayonnement de longueur d'onde voisine de 470 nm est particulièrement intéressant car ce rayonnement procure un rendement de fluorescence maximal du biosubstrat. On notera également que le but essentiel du filtre optique 26 est d'empêcher que le rayonnement modulé des diodes bleues 24 parvienne à la photodiode,

afin que, après la démodulation synchrone, le signal obtenu reflète uniquement la fluorescence chlorophyllienne. Il sert également à éviter que la photodiode reçoive un excès de lumière provenant de la source d'éclairage principal, susceptible de masquer le signal très faible de fluorescence. Pour améliorer encore la sensibilité de détection, on pourrait aussi filtrer la lumière émise par les diodes lumineuses avec un filtre ne passant pas les longueurs d'ondes supérieures à 650 nm, ou utiliser des sources de lumière polarisée pour éviter les réflexions des rayonnements autres que ceux de fluorescence.

Après le traitement de démodulation synchrone, le signal obtenu, représentatif en continu de la fluorescence chlorophyllienne du biosubstrat, peut subir de nombreux autres traitements ultérieurs aboutissant à l'affichage d'un graphique daté dans lequel les variations infimes de fluorescence et les dates de ces variations apparaissent clairement.

A titre d'exemple des résultats obtenus grâce au procédé et au capteur décrits précédemment, il a été possible de détecter de manière fiable des traces d'Atrazine ou de Diuron présentes dans l'eau à une concentration inférieure à 1 µg par litre.

Le dessin de la figure 2 représente un deuxième mode de réalisation du capteur, basé sur la mesure de l'oxygène généré par la photosynthèse du biosubstrat. Le capteur comporte un boîtier 30 fixé sur un élément de canalisation 31. Le boîtier 30 porte un détecteur 32 d'oxygène dissous, constitué de manière similaire à une électrode de Clark modifiée. Ce détecteur comporte une enveloppe opaque 33 de forme générale cylindrique, par exemple en PVC ou Delrin, à l'intérieur de laquelle est disposée coaxialement un porte-électrode 34 également cylindrique, par exemple en PVC transparent, dans lequel sont placées une ou plusieurs diodes lumineuses 40. Une chambre annulaire 35, ménagée entre le porte-électrode et l'enveloppe est remplie d'un électrolyte tel que KCl. L'enveloppe 33 est fermée à son extrémité par une paroi transparente à la lumière et perméable exclusivement à l'oxygène, telle qu'une membrane en PTFE 36. Le porte-électrode 34 s'étend jusqu'à proximité de cette membrane et porte sur sa paroi frontale une cathode 37, par exemple en or, formée d'une grille ou d'une spirale ou encore d'une feuille très mince d'or, de manière que cette cathode soit transparente à la lumière. Une anode 38 en argent est placée sur la paroi latérale du porte-électrode.

Une membrane poreuse 39 sur laquelle est déposée en couche mince un biosubstrat chlorophyllien 41 est fixée sur l'enveloppe 33 de manière à presser fermement le biosubstrat 41 contre le film de PTFE 36. Les dimensions du détecteur sont déterminées de manière que la membrane poreuse 39 soit sensiblement affleurante à la surface interne de la paroi de l'élément de canalisation, dans une fenêtre 42 ménagée à cet effet dans cette paroi.

Lors de la mise en oeuvre de ce capteur, l'eau cir-

culant dans l'élément de canalisation 31 baigne le biosubstrat 41 en traversant la membrane poreuse 39. L'activité photosynthétique du biosubstrat, générée par l'éclairage procuré par les diodes 40, génère de l'oxygène qui traverse le film de PTFE 36 et se retrouve dissous dans l'électrolyte 35. La concentration d'oxygène ainsi générée est déterminée par la mesure de l'intensité du courant circulant entre l'anode 38 et la cathode 37, entre lesquelles est maintenue une tension de polarisation de l'ordre de 0,7 volts. La courbe représentative du signal obtenu en fonction du temps représente donc, aux pertes près, l'intégrale de la quantité d'oxygène généré. Afin de pouvoir déterminer les variations dans le temps de la quantité d'oxygène généré par photosynthèse, la diode est alimentée cycliquement, de sorte que, bien que croissant, le signal obtenu reflète les cycles d'éclairement. Par dérivation, on obtient alors un signal représentatif de la quantité d'oxygène généré par unité de temps et donc de l'activité photosynthétique du biosubstrat. Afin de limiter l'influence des variations de température, d'une part la température de l'eau sera régulée autant que possible en aval du capteur, comme indiqué pour le premier mode de réalisation, et d'autre part un capteur de température pourra être intégré dans le détecteur, par exemple dans le porte-électrode, et la valeur mesurée prise en compte dans le traitement du signal représentatif de la quantité d'oxygène généré.

Ce dispositif a permis de détecter efficacement des traces de divers polluants, par exemple la présence d'Atrazine en concentration de 0,4 mg/litre, d'ions bichromate à 1 ppm, cyanure à 1 ppm, chlore à 3,6 mg/l, ou encore de phosphates ou nitrates, l'efficacité de détection étant cependant dépendante de la nature du biosubstrat utilisé. Le seuil de sensibilité actuellement atteint est de l'ordre de 50 µg/l.

Quelque soit la méthode de mesure utilisée, il est particulièrement important que l'eau soit bien brassée pour assurer l'homogénéisation de la température et la diffusion des polluants dans le biosubstrat. Pour cela, on utilisera avantageusement une pompe, par exemple une pompe centrifuge, qui permettra de plus d'augmenter la vitesse de l'eau dans la chambre 3, pour faire circuler l'eau en circuit bouclé, en passant au travers d'un réservoir tampon et d'un bloc de régulation de température.

Dans une utilisation en laboratoire, le circuit peut être fermé, de volume connu, par exemple de un litre, le polluant étant introduit en quantité déterminée dans ce circuit.

Pour une utilisation en surveillance continue, une difficulté est de maintenir une température constante de l'eau sans dépenser de fortes quantités d'énergie. Pour cela, plusieurs méthodes peuvent être utilisées :

- procéder à un mélange progressif, en utilisant une pompe péristaltique pour injecter en permanence dans le circuit bouclé un petit débit, par exemple quelques cm<sup>3</sup>/mn, de l'eau à tester, pendant que la

même quantité d'eau est rejetée ;

- ou procéder par échantillonnage, en prélevant lentement un volume d'eau à tester identique au volume du circuit fermé, et préchauffer cette eau pendant que se réalise la mesure sur l'échantillon précédent ; puis un mécanisme d'électrovannes substitue cette eau préchauffée au circuit principal pendant que l'échantillon précédent est rapidement rejeté. Idéalement, la durée du prélèvement est identique à celle de la mesure ; ainsi on ne perd pas d'informations. Un échangeur thermique peut servir à réchauffer ou refroidir l'eau prélevée par l'eau rejetée.

Dans le cas d'un fonctionnement par échantillonnage, plusieurs circuits d'eau ou plusieurs capteurs complets correspondant à des instants décalés dans le temps pourraient être utilisés en simultanéité, dans le but de diminuer les temps de réponse.

Dans le cas où l'on souhaite une mesure précise et fine, il est préférable de travailler par comparaison. Cela nécessite une ou plusieurs eaux de référence que l'on pourra injecter dans le capteur à des instants donnés, de manière à le calibrer ou recalibrer son zéro. Le processus nécessite un préchauffage comme dans le cas de l'échantillonnage.

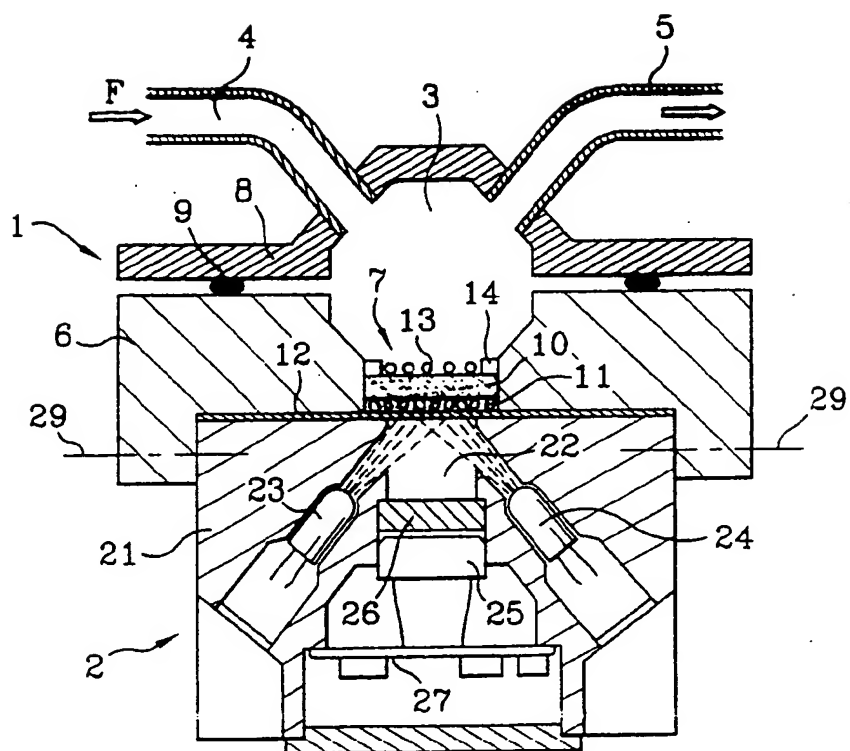
Pour éviter l'influence de la présence incontrôlée de gaz dissous dans l'eau, on procédera préférentiellement, en amont du dispositif, à un vigoureux brassage ou bullage avec de l'air, à température d'eau régulée, permettant d'uniformiser la quantité de gaz dissous.

## Revendications

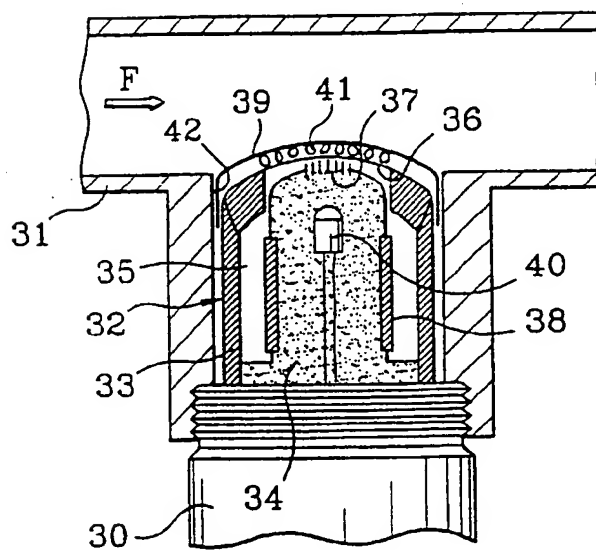
1. Capteur biologique de surveillance de la qualité d'une eau circulante et de détection de pollution de cette eau, caractérisé en ce qu'il comporte :

- un élément de canalisation (1, 31) dans lequel l'eau peut circuler et dans la paroi duquel est ménagée une fenêtre (7, 42) dans laquelle sont placés :
- une paroi de support (12, 36) transparente,
- une membrane poreuse (10, 39), sensiblement parallèle à la paroi de support, en communication directe avec l'intérieur de l'élément de canalisation et au travers de laquelle l'eau peut s'infiltrer,
- un biosubstrat chlorophyllien (11, 41) placé entre la paroi de support et la membrane poreuse,
- des moyens (2 ; 32) de mesure de l'activité métabolique du biosubstrat disposés contre la dite paroi de support, et
- une source lumineuse principale (23, 40) disposée de manière à éclairer le biosubstrat à travers la paroi de support.

2. Capteur biologique selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'élément de canalisation (1) comporte en face de la dite fenêtre (7) une ouverture obturée par un chapeau (8) étanche et facilement démontable. 5
3. Capteur biologique selon la revendication 1, caractérisé en ce que la dite fenêtre est réalisée dans la paroi d'une chambre (3) dans laquelle débouchent un conduit d'entrée (4) et un conduit de sortie (5) de l'eau. 10
4. Capteur biologique selon la revendication 1, caractérisé en ce que les moyens de mesure sont des moyens de mesure de la fluorescence chlorophyllienne du biosubstrat. 15
5. Capteur biologique selon la revendication 3, caractérisé en ce que les dits moyens de mesure comportent un boîtier (21) pourvu d'une ouverture (22) disposée face à la fenêtre (7), un détecteur de lumière (25) placé dans la dite ouverture et pourvu d'un filtre optique (26), pour mesurer la fluorescence du biosubstrat, une source lumineuse complémentaire (24) pour créer une illumination modulée du biosubstrat, et des moyens de traitement pour effectuer une démodulation synchrone du signal fourni par le détecteur. 20 25
6. Capteur biologique selon la revendication 3, caractérisé en ce que la source lumineuse principale est constituée de diodes lumineuses (23) placées dans le boîtier (21) et émettant à une longueur d'onde voisine de 550 nm, la source lumineuse complémentaire est formée de diodes émettant à une longueur d'onde voisine de 470 nm, les diodes étant disposées de manière que leur rayonnement soit dirigé vers le biosubstrat (11), et le filtre optique (26) est un filtre passant les longueurs d'ondes supérieures à environ 650 nm. 30 35 40
7. Capteur biologique selon la revendication 1, caractérisé en ce que la paroi de support (36) est en un matériau perméable à l'oxygène mais imperméable à l'eau, et les moyens de mesure sont des moyens de mesure (32) de la quantité d'oxygène généré par la photosynthèse du biosubstrat et traversant la dite paroi de support, les dits moyens de mesure (32) comportant une enveloppe (33) entourant un porte-électrode (34) et ménageant entre eux un espace annulaire (35) rempli d'électrolyte, le porte-électrode portant latéralement une anode (38) et, sur sa face frontale située à proximité de la paroi de support (36), une cathode (37) transparente aux rayonnements lumineux, la source lumineuse (40) étant située dans le dit porte-électrode. 45 50 55
8. Procédé de détection de la pollution d'une eau circulante caractérisé en ce qu'on place dans une fenêtre (7, 42) ménagée dans la paroi d'un élément de canalisation (1, 31) traversé par la dite eau un biosubstrat chlorophyllien (11, 41), maintenu entre une membrane poreuse (10, 39) en communication directe avec l'intérieur de l'élément de canalisation et une paroi de support transparente (12, 36), on dispose du côté de la dite paroi de support opposé à l'intérieur de la canalisation des moyens (2, 32) de mesure de l'activité métabolique du biosubstrat, on éclaire le dit biosubstrat à travers la dite paroi de support, et on mesure en permanence l'activité métabolique du biosubstrat, les variations des signaux fournis par les dits moyens de mesure étant représentatives de l'état de pollution de l'eau.
9. Procédé selon la revendication 8 caractérisé en ce que on éclaire le biosubstrat d'une part par un rayonnement de longueur d'onde voisine de 550 nm dans des conditions simulant un éclairage naturel, et d'autre part par un rayonnement modulé dans le temps de longueur d'onde voisine de 470 nm, de manière à induire une fluorescence modulée du biosubstrat, on mesure cette fluorescence par un détecteur de lumière (25) pourvu d'un filtre (26) arrêtant les longueurs d'onde inférieures à environ 650 nm, et on procède à une démodulation synchrone du signal fourni par le détecteur (25) de manière à déterminer le niveau de fluorescence du biosubstrat, lequel est représentatif de son activité métabolique.
10. Procédé selon la revendication 8 caractérisé en ce que la paroi de support est réalisée en un matériau perméable à l'oxygène mais imperméable à l'eau, et, pour déterminer l'activité métabolique du biosubstrat, on mesure les variations dans le temps de la quantité d'oxygène généré par la photosynthèse du biosubstrat et traversant la dite paroi de support.



**FIG. 1**



**FIG. 2**





Office européen  
des brevets

## RAPPORT DE RECHERCHE EUROPEENNE

Numéro de la demande  
EP 97 47 0014

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS			
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (Int.CL.6)
A	US 5 304 492 A (KLINKHAMMER GARY) 19 avril 1994 * colonne 4, ligne 6 - ligne 29 * * colonne 7, ligne 29 - colonne 8, ligne 33 * * figure 3 *	1,3,8	G01N33/18 G01N21/64 G01N21/76
A	DE 43 34 327 A (KERNFORSCHUNGSZ KARLSRUHE) 13 avril 1995 * page 3, ligne 8 - ligne 30 *	1,4,8	
A	DE 26 26 915 A (GESELLSCHAFT FÜR STRAHLEN- UND UMWELTFORSCHUNG) 24 février 1977 * revendication 1 *	1,4,8	
A	DE 25 60 064 C (MAX PLANCK GESELLSCHAFT) 1 décembre 1983 * colonne 2, ligne 7 - ligne 46 * * revendication 2; figure 1 *	1	
A	DE 34 12 023 A (BUEHLER EDMUND GMBH & CO) 10 octobre 1985 * revendications *	1,4,7,8	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.CL.6)
P,X	ORY J -M ET AL: "A BIOSENSOR FOR WATER QUALITY MONITORING" JOINT PROCEEDINGS OF THE IEEE INSTRUMENTATION AND MEASUREMENT TECHNOLOGY CONFERENCE AND THE IMEKO TECHNICAL COMMITTEE 7, BRUSSELS, JUNE 4 - 6, 1996, vol. 2, 4 juin 1996, INSTITUTE OF ELECTRICAL AND ELECTRONICS ENGINEERS, pages 1354-1359, XP000618144 * page 1355, colonne de gauche, alinéa 3 - * page 1356, colonne de gauche, alinéa 3 * * page 1357, colonne de droite, alinéa 3 - * page 1359, colonne de gauche, alinéa 2 * * figures 1,13 *	1,3-9	G01N
Le présent rapport a été établi pour toutes les revendications			
Lieu de la recherche LA HAYE		Date d'achèvement de la recherche 10 septembre 1997	Examineur Krametz, E
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant	

EPD FORM 1503 01/92 (P/M/C/D)



trou chlorophyllien (11), disposé entre une paroi de support (12) transparente et une membrane poreuse (10), en communication directe avec l'intérieur de l'élément de canalisation des moyens de mesure de l'activité métabolique du

manière à éclairer le biosubstrat à travers la paroi de support.

Application à la détection en continu de la pollution de l'eau, notamment d'eaux urbaines ou de rivières.

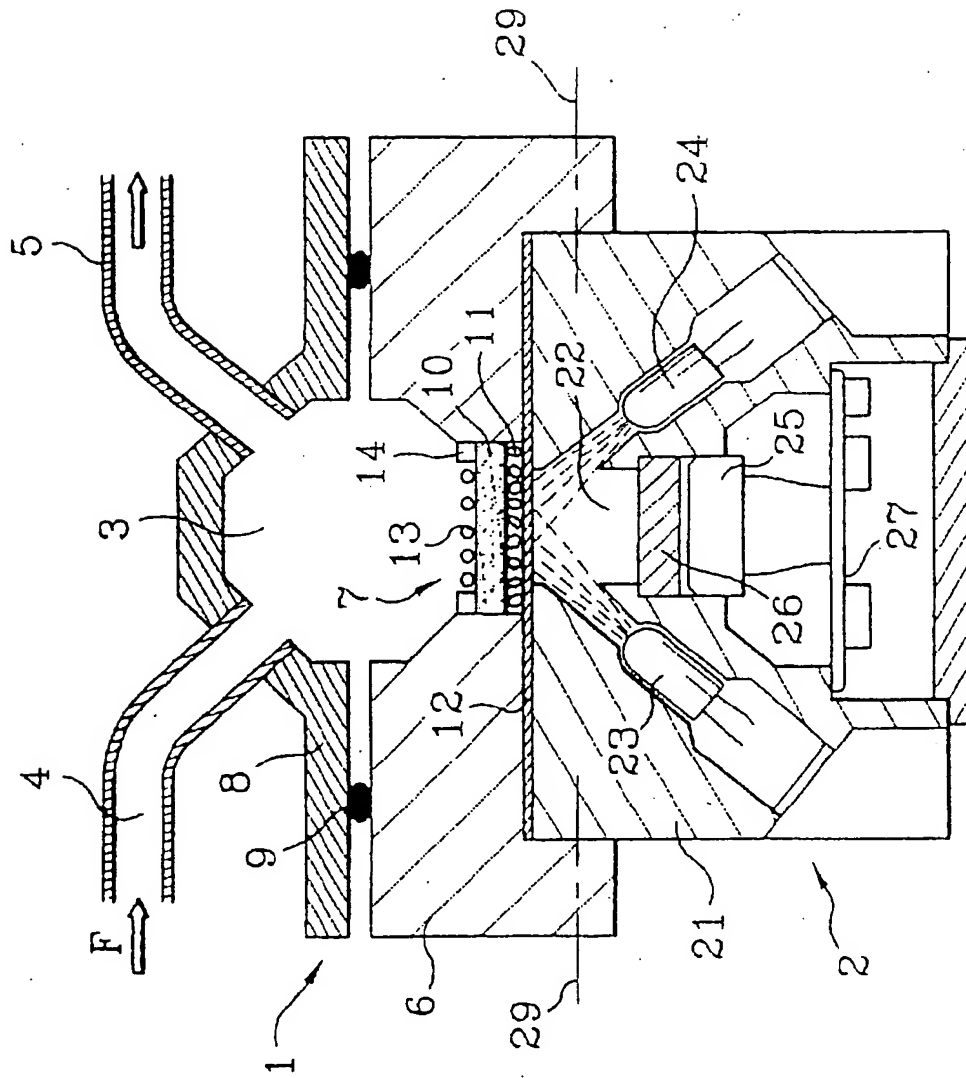


FIG. 1



EP0811842 B1

Biosensor and method for controlling the water quality

Arnatronic Plus Sàrl

Inventor(s): Ory, Jean-Marie

Application No. EP97470014 EP, Filed 19970602, A1 Published 19971210

Granted 19990519

Abstract: Biological collector for continuously monitoring water quality

A biological collector, for monitoring the quality of circulating water and detecting pollution of the water, comprises a tubing element (1) in which water can circulate. In the wall of the element is a window (7) in which a chlorophyll-containing biosubstrate (BS) (11) is placed. BS is located between a transparent support wall (12) and a porous membrane (10) in direct contact with the interior of the tubing element. The metabolic activity of BS is determined (preferably by measuring the chlorophyll fluorescence or the quantity amount of oxygen generated by photosynthesis), using sensors placed against the support wall. A main light source (23) illuminates BS through the support wall. Also claimed is a corresponding method of detecting pollution of circulating water, in which variations in the signals corresponding to the metabolic activity represent the state of pollution of the water.

